平成２３年度　新潟大学プロジェクト推進経費研究成果報告書

新潟大学長　　殿

申　請　者
所　属　医歯学総合病院
代表者氏名　　三上　絵美　　印

本年度の交付を受けたプロジェクト推進経費について，下記のとおり報告いたします。

プロジェクトの種目：奨励研究

プロジェクトの課題：組織・細胞レベルにおける歯槽骨変化と全身の骨代謝状態との関連性

プロジェクトの代表者：医歯学総合病院　　医員　　三上絵美　　分担者　０人

プロジェクトの成果：（別紙可）

【目的】

本研究では、歯槽骨の海綿骨組織が、組織レベル・細胞レベルで全身の骨代謝状態と呼応しているかどうかを明らかにし、歯槽骨の組織・細胞の変化を詳細に検索し、全身の骨代謝マーカー・骨密度との関連性を探索する目的で、歯科用インプラント窩洞形成時に得られた歯槽骨生検試料の骨構造を検索し、全身の骨代謝状態との関連性を検討した。

【研究成果１：歯槽骨微細構造変化と全身の骨代謝状態との関連性】

１．方法

対象は下顎臼歯部にインプラント埋入予定の女性で、歯槽骨を採取する部位が歯を喪失してから2年以上経過している試料を採取した。閉経前女性5名、閉経直後（閉経後5年以内）の女性3名、閉経後女性（閉経後8-26年）10名の計18名からそれぞれ1試料ずつ採取し解析を行った。

全身の骨代謝状態の検索は骨代謝マーカーの骨型アルカリフォスファターゼ（BAP)、オステオカルシン（OC)、血中Ｉ型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（NTX)、デオキシピリジノリン（DPD）を測定した。インプラント窩洞形成時に、トレフィンバーを用いて歯槽骨を円柱状（直径 2-3mm、高さ 4-9mm）に採取した。μCT を用いて微細骨梁構造を観察し、3 次元骨形態計測と骨塩量計測を行った。

各歯槽骨パラメータにおいて 3 群間の比較を行い、閉経に伴う歯槽骨海綿骨の微細構造や骨塩量の変化を統計学的に分析した。さらに、全試料のデータから、歯槽骨パラメータと全身の骨代謝マーカーとの相関関係を統計学的に検索した。

２．結果

歯槽骨生検試料のμCT画像から、閉経前群において板状の太い骨梁からなる連結性の高い密な海綿骨が、一方、閉経直後群と閉経後群において骨梁が菲薄で連結性の低下した粗な海綿骨が観察された。骨形態計測にて確認したところ、閉経直後群は閉経前群と比較し骨梁間隙とStructure Model Indexが有意に高値を示し、閉経後群は閉経前群と比較し骨量が有意に低値を示した。これは、全身の骨代謝状態が亢進する閉経直後に、歯槽骨にもいち早く海綿骨構造の棒状化や脆弱化といった変化が起こっており、閉経後の歯槽骨では、海綿骨の棒状化と脆弱化を伴う骨量減少が生じていたことが明らかとなった。

（注）報告書は２枚以上とする。別紙による場合も同じ。

そして、歯槽骨パラメータと骨代謝マーカーの相関関係を検索したところ、全ての歯槽骨パラメータが、少なくとも一つ以上の骨代謝マーカーと有意な相関関係を有しており、歯槽骨の海綿骨が全身の骨代謝状態をよく反映していることが明らかとなった(図1)。特に、Structure Model Index、骨パターンファクターと骨代謝マーカーとの間には、順位相関係数が 0.7 以上という強い正の相関関係が認められた。これは、全身の骨吸収と骨形成が亢進し骨代謝回転が亢進すると、歯槽骨の海綿骨がより棒状の脆弱な骨梁となることを示唆している。

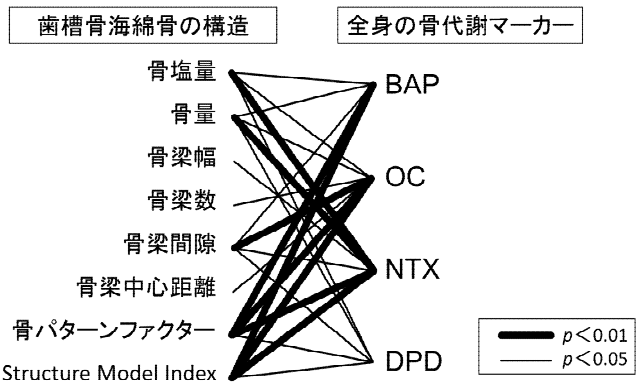

図1　歯槽骨海綿骨構造と骨代謝マーカーの相関関係
Spearman の順位相関係数の検定にて相関関係が認められたものを線で結んだ。多くの歯槽骨海綿骨構造の項目が、全身の骨代謝マーカーと多数の有意な相関関係を有しており、歯槽骨の海綿骨が全身の骨代謝状態をよく反映していることが明らかとなった。

3．結論

ヒト歯槽骨で閉経後早期に海綿骨構造が変化していること、またヒト歯槽骨の海綿骨構造が全身の骨代謝マーカーの変化と鋭敏に呼応していることが明らかとなった。これは、歯槽骨海綿骨の状況から全身の骨代謝状態を知ることができることを示しており、歯槽骨の詳細な検索が、骨粗鬆症発症リスクの高い人の早期発見に寄与する可能性を示唆している。

【研究成果２：歯槽骨の組織・細胞レベルの検索と全身の骨代謝状態との関係】

１．方法

下顎臼歯部にインプラント埋入予定の53歳男性を対象とし、歯槽骨生検を行い組織学的に検索した。術前に全身の骨代謝状態を評価するために骨代謝マーカー（BAP、OC、NTX、DPD）と踵骨骨密度を計測した。インプラント窩洞形成時に歯槽骨生検試料（直径2㎜×高さ7㎜）を採取し、μCT にて撮影後、脱灰薄切切片を作成しヘマトキシリン・エオジン（H-E）染色と酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ（TRAP）染色を行った。組織像より細胞レベルで骨リモデリングの様相を検索し、組織形態計測法にて計測・評価した。

２．結果

骨代謝マーカーはすべて基準範囲内で、踵骨骨密度は年齢の平均値よりやや低値を示したが標準偏差範囲内であり、全身的に骨代謝状態は正常であると考えらえる。組織学的観察から骨髄腔は脂肪組織で満たされ大部分の骨面は厚みのない骨芽細胞（骨休止面）で覆われていたものの、局所的には血球系細胞が骨髄腔で観察され、厚みのある骨芽細胞（骨形成面）や、TRAP 陽性の破骨細胞とセメントラインも観察された（表 1)。

これらの計測結果から骨形成と骨吸収が確実に行われていることが明らかとなり、全身の骨代謝マーカーの結果と矛盾しないことが示唆された。この解析方法を用いて症例数を増やすことで、より確実に歯槽骨から全身の骨代謝状態を予測することができる可能性が示された。

表１　組織形態計測の結果（試料３断面の平均値）

歯槽骨パラメータ		平均	±	SD
骨量	(%)	53.62	±	17.28
骨梁幅	(um)	335.15	±	55.46
骨芽細胞面	(%)	14.85	±	2.97
骨吸収面	(%)	1.95	±	0.44
骨休止面	(%)	39.28	±	8.08
骨梁数	(N)	1.57	±	0.28

プロジェクト成果の発表（論文名，発表者，発表紙等，巻・号，発表年等）（別紙可）

Yamashita-Mikami E, Tanaka M, Sakurai N, Arai Y, Matsuo A, Ohshima H, Nomura S, and Ejiri S: Correlations between alveolar bone microstructure and bone turnover markers in pre- and post-menopausal women. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2012. (in press)

収支決算書

単位：円

配分額：　498,000 円

費目別収支決算表

設備備品費	消耗品費	旅　費	謝金・賃金	そ の 他	合　計
0	289,700	137,600	62,700	8,000	498,000

設備備品費内訳

設備備品名	仕様・型式等	数　量	単　価	金　額
計				0

消耗品費内訳

品　目	数　量	単　価	金　額
MAC Drive 9 Standard、Photoshop CS5 他	23		78,939
A4 カラーコピー用紙 500 枚	3	735	2,205
ファイル、ノート　他	33		12,159
テープカッター、ステープラー　他	18		10,506
タックメモ	7		2,593
スクリュー管ビン、ピンセット、試験管用ブラシ　他	9		16,611
4GB メモリ	1	21,000	21,000
ソフトウェア（Office Professional Academic）	1	29,400	29,400
ビニールテープ、電卓、取扱説明書ファイル　他	14		4,588
プラグアダプター、ハードディスク　他	9		111,699
計			289,700

旅　費　内訳

事　項　・　出張先	回　数	単　価	金　額
11/4-5　骨粗鬆症学会　神戸国際会議場	1	51,020	51,020
2/19　モリタ歯科用 CT 講演会　東京国際フォーラム	1	23,140	23,140
3/17-18 日本歯科骨粗鬆症研究会大阪大学中之島センター	1	63,440	63,440
計			137,600

謝 金 ・ 賃 金　内訳

事　項	員　数	単　価	金　額
投稿論文の英文校閲及び英語への翻訳謝金	1	62,700	62,700
計			62,700

そ　の　他　内訳

事　項	員　数	単　価	金　額
第 10 回日本歯科骨粗鬆症研究会　参加費	1	8,000	8,000
計			8,000